



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA**

**TÍTULO**

**EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO DE *Allium sativum* EN CEPAS  
DE *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, CONTRASTADO CON  
KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO  
CIRUJANO**

**AUTOR**

**JESÚS ELÍAS RODRÍGUEZ VILLAVICENCIO**

**ASESORES**

**MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

**MEDICINA ALTERNATIVA**

**Trujillo, Perú**

**2018**

## **DEDICATORIA**

A mis padres y hermanos por su constante aliento y preocupación en conocer día a día los logros alcanzados para llegar a la meta de ser profesional.

A cada uno de amigos, a quienes estoy profundamente agradecido porque Dios fue bueno conmigo al permitirme conocerlos, pues me animaron y sustentaron a través de sus oraciones y palabras de aliento.

Jesús Elías Rodríguez Villavicencio

## **AGRADECIMIENTO**

### **A la DRA. ANA PERALTA IPARRAGUIRRE**

Quien orientó éste esfuerzo con preocupación.

### **AI Dr. MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA**

Quien asesoró desde el inicio este trabajo.

### **AI LIC. CARLOS TAPIA SÁNCHEZ**

Por sus correcciones que permitieron mejorar este trabajo.

Jesús Elías Rodríguez Villavicencio

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO DE *Allium sativum* EN CEPAS DE *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, CONTRASTADO CON KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO** la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Jesús Elías Rodríguez Villavicencio

## ÍNDICE

### PÁGINAS PRELIMINARES

Página del Jurado	II
Dedicatoria	III
Agradecimiento	IV
Declaratoria de autenticidad	V
Presentación	VI
Índice	VII
<b>RESUMEN</b>	IX
<b>ABSTRACT</b>	X

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	10
1.1. Problema	10
1.2. Antecedentes	11
1.3. Marco Teórico	14
1.4. Problema	22
1.5. Justificación	22
1.6. Hipótesis	22
1.7. Objetivos	23
<b>II. MÉTODO</b>	24
2.1. Tipo de Estudio	24
2.2. Diseño de Investigación	24
2.3. Identificación de Variables	24
2.4. Operacionalización de variables	25
2.5. Población y Muestra	25
2.6. Criterios de Selección	26
2.7. Técnica e instrumentos de Recolección de Datos,	
Viabilidad y Confiabilidad.	26

2.8. Metodología	27
2.9. Aspectos Éticos	28
<b>III. RESULTADOS</b>	<b>28</b>
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>35</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	<b>36</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS</b>	

## RESUMEN

**Objetivo:** Fue evaluar el efecto de *Allium sativum* como antifúngico sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, estudio in vitro.

**Método:** El estudio realizado fue experimental. Se trabajó con 10 placas Petri en diferentes concentraciones de extracto de ajo al 25%, 50%, 75% y 100%, además del ketoconazol como gold estándar y solución fisiológica como control. Estos datos se analizaron a través del programa de SSPP versión 22 para abreviar la información en tablas estadística, Excel para resumirla y el estadístico de prueba utilizado fue el análisis multivariado (ANOVA).

**Resultados:** El extracto de *Allium sativum* fue eficaz en la concentración del 100 %, en la concentración de 75% en un 50 %, y a la concentración de 50% a menos no resultó ser eficaz según el criterio de clsi. El ketoconazol fue eficaz en todas las placas.

**Conclusión:** Mientras más concentración de *Allium sativum* mejores son los resultados, al 100% se encontró que ejerce efecto antifúngico.

**Palabras claves:** *Allium sativum*, *Trichophyton rubrum*, ketoconazol.

## ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of *Allium Sativum* "garlic" as an antifungal agent on strains of *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, in vitro study.

Method: The study was experimental. Where we worked with 10 Petri dishes and different concentrations of garlic extract at 25%, 50%, 75%, and 100%. These data were analyzed through the program of SSPP version 22 to abbreviate the information in statistical tables, Excel to summarize it and the test statistic used was the multivariate analysis (ANOVA).

Results: The extract of *Allium sativum* was effective in the concentration of 100%, in the concentration of 75% in 50%, at the concentration of 50% unless it was not effective according to the clsi criterion. Ketoconazole was effective in all plaques.

Conclusion: The more garlic concentration, the better the results, 100% it was found that the majority exerted antibacterial effect.

Key Words: *Allium sativum*, *Trichophyton rubrum*, ketoconazole.



## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. PROBLEMA

Las dermatopatías varían considerablemente según el área geográfica y factores ambientales. En las naciones en vías de desarrollo, las dermatopatías forman un problema de salud, especialmente las de etiología infecciosa.<sup>1</sup> Es por ello, que están incluidas en el plan de control de patologías primordiales para del Centro Fogarty Internacional, el Banco Mundial y la Organización Mundial de la Salud (OMS).<sup>2</sup>

Las malas condiciones socioeconómicas, los climas tropicales y subtropicales tienen relación en el incremento de la prevalencia en las dermatopatías.<sup>3</sup> La alta prevalencia de enfermedades micóticas superficiales es de 20-25% en el mundo; asimismo, originan 300 a 500 millones de pacientes por año, convirtiéndola en una infección frecuente.<sup>4</sup> Los microorganismos responsables de las micosis de la piel son dermatofitos antropófilos y zoofílicos de los géneros *Trichophyton* (T.), *Microsporum* (M.) y *Epidermophyton* (E.).<sup>5</sup>

El Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Universidad Mayor de San Marcos, mostró que el 55.3% de los pacientes con sospecha clínica de dermatomicosis presentaron como agente etiológico a *Trichophyton rubrum* (33,2%), *Trichophyton mentagrophytes* (9,4%) y *Candida albicans* (15,3%); los cuadros más frecuentes fueron onicomycosis, tiña corporis y tiña pedis.<sup>6</sup> En Trujillo se identificó en los casos de dermatomicosis como agente causal a *Trichophyton rubrum* (3,1%), *Trichophyton mentagrophytes* (9,1%) y *Microsporum canis* (84,7%).<sup>7</sup>

La OMS toma en cuenta como planta medicinal aquel vegetal que tiene, compuestos que logran ser utilizadas con fines terapéuticos en uno o más de sus órganos.<sup>8</sup>

En el *Allium sativum* se identificó a los principios activos: Alicina, ajoene, tiosulfatos y demás organosulfurados, y se comprobó efectos antifúngicos, antitumorales, antitrombóticos, y antiparasitarios.<sup>9</sup> Empero, el ajoene, que es obtenido a partir de la alicina, demostró poseer propiedades antifúngicas.<sup>10</sup>

## 1.2. ANTECEDENTES

**Mayorga J. et al<sup>11</sup> (Mexico, 2017)** investigaron la prevalencia de dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*, en un periodo de 21 años. El estudio fue de tipo retrospectivo, donde los pacientes en estudio fueron del Instituto Dermatológico de Jalisco. Se aislaron 4,763 pacientes por *T. rubrum* con una prevalencia del 6%. El sexo masculino predominó con 59%, donde el grupo etario más frecuente fue de 21 a 30 años; asimismo, el examen directo con KOH fue positivo en 4,786 muestras (88%). Concluyeron que el *T. rubrum* es el dermatofito más frecuente en adultos, además que sus principales sitios de acción fue las uñas y los pies.

**Shivakumar P. et al<sup>12</sup> (India, 2015)** estudiaron la actividad antifúngica de 61 plantas, obteniendo 315 extractos acuosos de acetato de etilo y metanol, frente a cepas de *Trichophyton rubrum* (ATCC 1344), con un control estándar de ketaconazol. Al concluir la investigación se identificó que de 61 vegetales sólo 18 poseen actividad antifúngica alta, dentro de este grupo se encuentra *Allium sativum*, donde además se encontró que con 5 mg del extracto metanólico de *Allium sativum* posee un halo de inhibición de  $05.66 \pm 1.15$  y  $05.33 \pm 0.57$  mm para *Trichophyton rubrum*.

**Aala F. et al<sup>13</sup> (Iran, 2014)** investigaron los efectos de *Allium sativum* y alicina pura sobre el crecimiento de las hifas de *T. rubrum* utilizando electrones microscopy. Este estudio se llevó a cabo para observar los cambios morfológicos de *T. rubrum* tratados con alicina, así como el extracto de ajo acuoso usando microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Encontraron que la microscopía electrónica de barrido mostró que la hifa tratada con alicina tiene una superficie áspera, granular y asimétrica. Sin embargo, la hifa tratada con extracto de ajo tenía superficie rugosa y mullidas, y también asimétricas, concluyendo que la alicina pura (6,25 g/ml y 12,5 mg/ml) es más eficiente en la inhibición del crecimiento de células de las hifas comparado con el extracto de ajo (2 mg/ml y 4 mg/ml).

**Abdelbasit E. et al<sup>14</sup> (Sudan, 2014)** estudiaron la actividad antifúngica in vitro de *Allium sativum* sobre algunos hongos patógenos. Los extractos acuosos y orgánicos de ajo se obtuvieron por maceración y extractor Soxhlet. Los extractos de metanol y éter de petróleo se probaron contra *Candida albicans*, *Aspergillus*, *Curvularia* y *Tricophyton mentagrophytes*, *Tricophyton soudanense* usando

métodos de difusión en copa y agar Sabouraud's. En éste contexto se obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 10 mg/ml para los dermatophytos.

**Patankar M. et al<sup>15</sup> (India, 2014)** compararon la concentración fungicida mínima (MFC) de clotrimazol con miconazol, ketoconazol y terbinafina en dermatofitos cutáneos. El estudio demostró que clotrimazol tenía menor MFC en comparación con ketoconazole y miconazole contra *Trichophyton rubrum*. El clotrimazol demostró MFC más bajos (0,01- 0,03 mcg/ml) en comparación con el ketoconazol (0,06 mcg/ml) y miconazol (0,06-1,25 mcg) frente a *Trichophyton rubrum*.

**Morton O. et al<sup>16</sup> (Australia, 2014)** evaluaron el efecto de la terapia combinada, utilizando emisor de luz barata diodo (LED) para fotoactivar rosa de bengala combinado con la terapia estándar de clotrimazol. En éste contexto utilizaron la terapia fotodinámica con la fotoactivación de rosa de bengala (RB-TFD) in vitro contra *T. rubrum*. En primer lugar, hemos sometido suspensiones de esporas a concentraciones sub-inhibidoras de un número de agentes antifúngicos (CLT, MCZ y TRB) durante 72 horas seguido de RB-PDT. En segundo lugar, hemos sometido suspensiones de esporas a sub-inhibidora PDT seguido de tratamiento con el fármaco y se evaluó si había algún cambio en las concentraciones inhibitorias mínimas (MICs) de los fármacos probados, encontrando reducción drásticamente de los tiempos de exposición con la terapia combinada. Concluyeron que la combinación de fármaco antifúngico y RB-PDT representa una atractiva alternativa a los tratamientos antifúngicos.

**Bhadauria S. et al<sup>17</sup> (India, 2011)** realizaron trabajos sobre antidermophítica de tres plantas: *Allium sativum linn.* frente a cepas de *Trichophyton rubrum*, Encontrando actividad antifúngica fuerte con el extracto con agua de *Allium sativum linn*, frente a *Trichophyton rubrum*, con un halo de inhibición de 22 mm. (Índice de actividad = 0.48), y para *Trichophyton mentagrophytes* no se encontró actividad antifungica con dicha preparación del extracto.

**Sei Y.<sup>18</sup> (Japón, 2011)** realizó una encuesta epidemiológica de las dermatomicosis, abarcando un total de 36,052 pacientes ambulatorios que visitaron 12 clínicas dermatológicas en todo Japón. Se encontró que dermatofitosis fue la infección más frecuente (2.980 casos). *Tinea*

*pedis* y *Tinea unguium* se observó un aumento en la temporada de verano y se producen principalmente entre la población de edad avanzada. *Trichophyton rubrum* fue el más frecuentemente aislado en aproximadamente 80% entre todas las infecciones por dermatofitos.

**Bejar V. et al<sup>19</sup> (Perú, 2014)** determinaron la epidemiología de las dermatomicosis en un estudio retrospectivo descriptivo, en sujetos de consulta externa durante el periodo de 1976-2005, del Instituto de Medicina “Daniel Alcides Carrión” de la Universidad Mayor de San Marcos, se encontró 7,185 (55,3%) casos positivos de dermatomicosis. Asimismo, donde el grupo etario más afecto fue de 16 a 30 años (42,7%) y del género femenino (52,1%). La onicomycosis (43,6%) fue la más frecuente con el agente etiológico *Trichophyton rubrum* (33,2%) y *Cándida albicans* (15,3%).

**Cahuas L. et al<sup>20</sup> (Perú, 2010)** determinaron el efecto antimicótico de la forma liofilizada de *Allium sativum* en cepas de dermatofitos y *Candida albicans*. El medio de cultivo utilizado fue Sabouraud. Se estimó que para *T. rubrum* en las diferentes concentraciones de la planta, 500 ug/ml es la concentración mínima inhibitoria; así también, el efecto fungicida de *A. sativum* es 1000 ug/ml.

### 1.3. MARCO TEÓRICO

La medicina tradicional se viene utilizando desde tiempos remotos, donde poco a poco está siendo reconocida científicamente para proporcionar nuevas medidas terapéuticas. En éste contexto tenemos que en nuestro país a través del Ministerio de Salud se ha creado en Instituto Nacional de Medicina Tradicional, con el objetivo de vincular la medicina ancestral con la medicina académica a través de la investigación, y la Fitoterapia que se define como el uso de plantas medicinales y sus fitocomplejos con fines terapéuticos. La Fitoterapia se diferencia de la medicina convencional por la utilización de matrices vegetales complejas. Éstas son recolectadas de diferentes órganos de la planta (hoja, raíz, tallo, etc.).<sup>21</sup>

La medicina tradicional está definida por la OMS como la inclusión de diversas prácticas de salud, conocimientos, enfoques y creencias que incluyen medicinas vegetales, minerales y/o animales, técnicas manuales y ejercicios aplicados para mantener el bienestar, así como para tratar, diagnosticar o prevenir una enfermedad (OMS, 2002)<sup>22</sup>. Los términos medicina complementaria y medicina alternativa se utilizan para referirse a prácticas que no están integradas en el sistema de salud. Prácticas que son llevadas a cabo en mayor porcentaje por las plantas en sus diferentes sustratos, ya sean aceites esenciales o extractos, en éste sentido los extractos medicinales son un concentrado obtenido a través de componentes tales como agua, etanol o éter.<sup>23</sup>

El *Allium sativum* es tan antiguo que es difícil saber con certeza el lugar de origen, se dice que fue oriunda del sudoeste de Siberia donde posteriormente se extendió a nivel mundial aclimatándose a diferentes medios, el ajo ha sido utilizado desde tiempos inmemorables donde los egipcios lo manejaban como alimento para los esclavos que edificaban las pirámides, puesto que entendían que les contribuía energía; asimismo, se utilizaba en procesos de momificación y como moneda. Durante la Segunda Guerra Mundial tuvo un papel importante en la medicina de los soldados. Su nombre botánico es *Allium sativum*. el término allium proviene del vocablo celta “all”, que significa caliente, mientras que sativum es un vocablo latino que significa cultivado.<sup>23</sup> Los principales lugares de producción en el Perú son: Huancavelica, Huánuco, Ica, Junin, Amazonas,

Arequipa, Ayacucho, La Libertad. A nivel internacional, China, España y Argentina son los principales exportadores.<sup>24</sup>

El ajo es una planta herbácea monocotiledónea, pertenece al reino plantae, en la división magnoliophyta, de la clase lilipsida, en el orden asparagales, de la familia alliaceas, en su especie sativum. La raíz es de coloración blanquecina de aproximadamente 0.5 mm de diámetro y 40 cm de profundidad. El tallo se encuentra subterráneo donde sus yemas dan origen a las hojas y los dientes del bulbo. El bulbo también llamado cabeza de ajo está formado por la maduración de las yemas. Las hojas de *Allium sativum* son lineales de hasta 60 cm de longitud y 4 cm de anchura. Las flores son de color rosado o violáceo, conformadas por seis pétalos y rara vez las flores generan frutos.<sup>25</sup>

El ajo se constituye esencialmente de agua en 56-68%; asimismo, tiene 6.36 gramos de proteínas, seguido de hidratos de carbono en 26-30% y aporta 149 Kcal en 100 gramos de su peso en seco. Los elementos con propiedades terapéuticas, son los elementos sulfurados (11-35 mg/100g). El resto está conformado por vitaminas y minerales.<sup>26</sup>

Se han identificado hasta 33 compuestos azufrados, donde los principales son aliina (7-14 mg/g), isoaliina (0.1-2 mg/g) y metiina (0.5-2 mg/g). Estas cisteínas sulfuradas se crean a partir del glutamylcisteina durante su maduración coincidiendo con el momento donde aumenta la concentración de la enzima y-glutamyl-transpeptidasa.<sup>27</sup>

Alicina o también conocido como S-alicisteina-sulfoxido, es el elemento sulfurado más copioso en el ajo. La aliina es constante en soluciones acuosas y a temperatura elevadas, aliina está presente en cantidades de 5-14 mg/g, se encuentra separada de la enzima alinasa por la membrana celular; así, cuando entran en contacto la enzima actúa sobre aliina y se produce alicina. Ésta enzima se activa en medios de pH de 4.5 - 9.0, pero se inactiva velozmente de forma irreversible a pH 1.5-3.0.<sup>28</sup>

Alicina deriva de aliina y tiene como propiedades antimicrobianas sobre patógenos Gram positivos y negativos, incluso aquellas con farmacoresistencia, así también, se ha acuñado a alicina efectos antifúngicos sobre cándida y antiparasitaria intestinales. Alicina pertenece al grupo de los tiosulfatos

compuestos que experimentan múltiples transformaciones dependiente de las condiciones de extracción, el pH y la temperatura. La alicina en combinación con metanol produce trisulfuros de dialilo (83%), disulfuros de dialilo (10%) y ajoene (1%).<sup>29</sup>

El ajoene es una palabra compuesta, donde al “ajo” se le atribuyó por su nombre popular y la terminación “ene” es indicativa de la presencia de dobles enlaces, aunque el ajoene es de naturaleza predominantemente lipófila, lo que nos indica que debe alcanzar rápidamente el estrato córneo y penetrar fácilmente en la piel, esto responde a los múltiples estudios que se han realizado sobre el ajo como afecto antifúngico en las onicomicosis.<sup>30</sup>

Dentro de los minerales que se han identificado en mayor porcentaje encontramos al fósforo, potasio, zinc, azufre y en menor porcentaje al selenio, calcio, sodio, hierro y manganeso. Entre las vitaminas que tienen niveles moderados está la vitamina A y C, así en menor porcentaje están las vitaminas del complejo B, y entre los aminoácidos identificados tenemos a metionina, fenilalanina, alanina, arginina, ácido aspártico, entre otros.<sup>31</sup>

Las propiedades terapéuticas que tiene el ajo son muy variadas, las cuales son antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas, supresión de tumores, hipoglucemiantes y prevención de enfermedades cardiovasculares. Sus propiedades antifúngicas se atribuyen al alto contenido de alicina, aunque también se le imputa esta propiedad al ajoene, el mecanismo que se conoce por el cual actúa es alterando el perfil lipídico de las membranas celulares; así también, el ajo tiene efectos sobre el sistema inmune atrayendo al lugar de inflamación los linfocitos y macrófagos.<sup>32</sup>

En las micosis cutáneas está afectado únicamente los tejidos queratinizados superficiales como son la uña, el cabello y la piel. Los patógenos más significativos son los dermatofitos que contienen unas 40 especies que corresponden a tres géneros: *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum*. Los dermatofitos se clasifican en geófilos, zoófilos o antropófilos, con base en su hábitat usual, que comprende la tierra, los animales o los seres humanos. Las especies de *Trichophyton* atacan la piel, pelos y uñas. En la piel y uñas aparecen elementos ramificados y segmentados con artrosporas.<sup>33</sup>

Microscópicamente tiene hifas largas y delgadas, los microconidios son abundantes con forma piriforme a redondeada, raramente hay macroconidios con pared delgada, multiseptados, de tamaño variable y de forma de puro o cigarrillo. Macroscópicamente las colonias son algodonosas, con el tiempo toman un aspecto aterciopelado y pulverulento, de color blanquecino o rojo-violeta, el reverso de la colonia suele tener un color rosado-rojo, pero en ocasiones puede ser amarillo. Las esporas pueden sobrevivir en diferentes medios como la ropa, el suelo, el agua dulce y salada, y por meses en escamas de la piel. La transmisión se produce principalmente por el contacto directo o indirecto. Las principales vías de ingreso son la dérmica y la respiratoria.<sup>34</sup>

Muchos hongos tienen la capacidad de reproducirse sexual y asexualmente. Se ha planteado la hipótesis de que los hongos se expanden preferentemente clonalmente a través de la reproducción asexual en nichos ambientales estables; sin embargo, también pueden experimentar intercambio genético a través de la reproducción sexual en respuesta a condiciones estresantes, tales como nuevos ambientes o cambios en el huésped humano, incluyendo el uso de terapia antimicrobiana. La reproducción sexual es particularmente rara en dermatofitos antropofílicos. Sin embargo, la identificación de locus tipo de apareamiento (MAT) en cinco especies de dermatofitos ha indicado que la mayoría de los dermatofitos antropofílicos retienen un locus MAT y ciclos sexuales o parasexuales existentes.<sup>35</sup>

La colonia de *Trichophyton rubrum* se caracteriza por tener una superficie blanca algodonosa y un pigmento rojo intenso, pero si se observa por la cara trasera los microconidios son pequeños y piriformes; así mismo, *Trichophyton rubrum* tiene un periodo de incubación de uno a dos semanas.<sup>36</sup>

En las pruebas de laboratorio hallamos que las muestra tienen que ser recolectadas por medio de raspadura de las uñas y la piel comprometida, así también de cabellos extirpados de zonas comprometidas, y para el examen microscópico éstas muestras se colocan sobre una lámina, añadiéndole una gota de hidróxido de potasio al 10%, se sobrepone un cubre objetos y se visualiza con un microscopio de fluorescencia, se deberían identificar hifas ramificadas o cadenas de arthroconidios.<sup>37</sup>



El único medio para identificar con exactitud la especie de dermatofito es el cultivo. Las muestras son inoculadas en agar Sabouraud, el cual contiene entre sus componentes cloranfenicos y ciclohexina, esto para eliminar la difusión de bacterias y mohos.<sup>38</sup>

La dermatofitosis, que es una infección fúngica común en todo el mundo, ocurre en todos los grupos de edad y sexo, y más del 70% de la población experimentará esta infección durante su vida. Las micosis cutáneas son provocadas por patógenos, los cuales sólo su sitio diana son tejidos queratinizados como las uñas, el cabello y la piel. Los patógenos con mayor impacto clínico son los dermatofitos, los cuales incluyen más de 40 tipos similares que pertenecen a tres géneros: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*. Las micosis cutáneas pueden ser persistentes y molestas; pero, no son debilitantes ni letales, su persistencia está vinculada a la producción de queratinasas y elastasas, enzimas que les confiere mayor tiempo de sobrevivencia en la piel.<sup>39</sup>

Los dermatofitos se clasifican en base a su hábitat como geófilos los que viven en la tierra, zoófilos los que viven en animales y los que habitan en el ser humano los antropofitos; empero, algunos dermatofitos que habitan normalmente la tierra o en animales también pueden causar infecciones en el ser humano. En términos generales, conforme la especie sufre procesos evolutivos y cambia su hábitat pierde su capacidad de producir conidios asexuales y reproducirse sexualmente. Los cuadros crónicos de micosis cutánea son causados por antropofitos, pero los cuadros inflamatorios agudos son causados por dermatofitos geófilos y zoófilos. Los medios de contagio son directos e indirectos.<sup>40</sup>

Las infecciones por dermatofitos son causadas por artrosporas o conidios que se reproducen asexualmente. Las infecciones dermatofíticas más comunes se deben a la ausencia de sebo, que es una secreción inhibitoria natural; el sebo, no está presente en la región plantar debido a la ausencia de glándulas sebáceas. Las dermatofitosis se transmiten de forma directa e indirecta, así tenemos aquellas personas con traumatismos expuestos. La susceptibilidad del hospedador está compuesta por elementos como sudor, humedad, calor, propiedades químicas específicas y el hacinamiento. Los conidios pueden permanecer por largo tiempo. Los antropofitos pueden ser transmitidos a través

de objetos inanimados como duchas compartidas, toallas contaminadas o contacto directo.<sup>41</sup>

Los dermatofitos liberan diversas enzimas (queratinasas, metaloproteasas, cisteína dioxigenasa y serina proteasas), producen lipasas y ceramidas e invaden la queratina superficial. Los queratinocitos no sólo constituyen una barrera física contra los dermatofitos, sino que también juegan un papel en las reacciones inmunes cutáneas. Expresan receptores de reconocimiento de patrones, tales como receptores Toll-like (TLRs) y dectin-1, que promueven la liberación de diversas citoquinas proinflamatorias y factores quimiotácticos y causan reacciones inflamatorias, como enrojecimiento e hinchazón. Los queratinocitos también liberan péptidos antimicrobianos, incluyendo defensinas, catelicidas y psoriasina, que previenen la invasión fúngica. La liberación de beta-defensinas disminuye en pacientes con dermatitis atópica, lo que conduce a frecuentes infecciones dermatófitas<sup>42</sup>

Los factores quimiotácticos reclutan neutrófilos y monocitos (macrófagos), que son fagocitos inflamatorios que engullen dermatofitos y liberan citoquinas. También producen especies reactivas del oxígeno (ROS), tales como superóxido, peróxidos de hidrógeno y radicales hidroxilos, que dan como resultado proteínas dañadas, lípidos y ADN, destruyendo así los patógenos fagocitados. Sin embargo, los mannans de pared celular de *T. rubrum* disminuyen la respuesta linfoproliferativa. Las infecciones fúngicas locales inducen la producción de anticuerpos circulantes y activan los linfocitos T, dando lugar a diversas reacciones inflamatorias localizadas o generalizadas denominadas "reacciones id".<sup>43</sup>

Las manifestaciones clínicas de la micosis cutánea de los pies (pie de atleta), afecta principalmente la piel de las plantas y los espacios interdigitales. Es la localización más frecuente por su alto contenido de queratina, así mismo es más prevalente en varones, se distinguen cuatro variantes clínicas; la variante de mocacin (hiperqueratocica), la variante interdigital, la variante inflamatoria o vesicular, y finalmente la variante ulcerativa.<sup>44</sup>

La variante de tipo mocacin tiene como característica principal la hiperqueratosis difusa, descamación y eritema, yuxtapuesto con fisuras que comprometen las

superficies plantares. La variante interdigital es la más común con evolución crónica, se caracteriza por la presencia de descamación, maceración, eritema, y fisuras dolorosas, así en el cuarto y quinto espacio es el lugar con mayor frecuencia pudiendo extenderse por el dorso del pie.<sup>52</sup> La variante inflamatoria o vesiculosa suele manifestarse por presencia de ampollas, siendo la superficie media y anterior el lugar más frecuente. Generalmente es autolimitada, pero con tendencia a reaparecer estacionariamente según las condiciones del huésped como humedad, calor y sudoración. Por último, la variante ulcerativa es un cuadro agudo considerada como una exacerbación de la forma interdigital, que se caracteriza por maceración, úlceras, erosiones en los espacios interdigitales, hiperqueratosis y un olor fétido. Asociado a sobre infección bacteriana y es frecuente en pacientes inmunodeprimidos y diabéticos.<sup>45</sup>

*Tinea pedis* puede llevar a varias complicaciones, incluyendo los procesos de sobre infección bacteriana, granulomas de Majocchi, tinea incógnito, linfangitis, celulitis, puede extenderse a las uñas, e inclusive a otras áreas de la piel.<sup>54</sup> *Tinea pedis* puede tratarse con antifúngicos tópicos u orales o una combinación de ambos. Los agentes tópicos se utilizan durante 1-6 semanas, de acuerdo con el contenido de la medicación antifúngica. La terbinafina ha demostrado ser eficaz en pacientes con *Tinea pedis* interdigital después de sólo una semana de tratamiento. Sin embargo, los pacientes con *Tinea pedis* hiperqueratósicos deben ser tratados durante 4 semanas.<sup>46</sup>

En pacientes con *Tinea pedis* hiperqueratósica, los medicamentos antifúngicos deben aplicarse a los fondos y los lados de los pies. Aunque la *Tinea pedis* interdigital puede ser asintomática, los pacientes deben aplicar fármacos tópicos a las áreas interdigitales y a las plantas de los pies, debido a la probabilidad de infección plantar-superficial. Los pacientes tienden a dejar de usar los medicamentos después de la resolución de los síntomas, lo que conduce a la recurrencia de la enfermedad. Los pacientes también pueden estar motivados para aplicar una cantidad excesiva de medicamentos tópicos.<sup>47</sup>

Se pueden utilizar agentes secantes como el permanganato de potasio o la solución de Burow para la *Tinea pedis* vesicular. La úrea tópica u otros medicamentos queratolíticos pueden ser añadidos para *Tinea pedis* tipo mocosín. Si las lesiones están inflamadas, los medicamentos antimicóticos

tópicos y la combinación de corticosteroides se pueden usar durante un corto período de tiempo.<sup>48</sup>

Los pacientes con *Tinea pedis* hiperqueratósica crónica extensa o *Tinea pedis* inflamatoria y vesicular típicamente requieren terapia oral, al igual que pacientes con onicomycosis concomitante, diabetes, enfermedad vascular periférica o condiciones inmunocomprometidas.<sup>49</sup>

Aunque no amenaza la vida, la *Tinea pedis* constituye un importante problema de salud pública debido a su alta prevalencia en los grupos de riesgo y su morbilidad asociada. La enfermedad puede tener ciertas consecuencias negativas para los pacientes, como la picazón y puede potencialmente socavar el trabajo y la vida social, particularmente en el envejecimiento de la población.<sup>59</sup>

*Tinea pedis* se transfiere a través de escaras cutáneas infectadas y el control puede lograrse educando a individuos infectados para evitar contaminar las superficies al no caminar descalzo en los pisos de los hogares o cerca de piscinas, vestuarios públicos y duchas públicas. Los dermatofitos antropofílicos pueden sobrevivir al menos 123 días en una piscina clorada a temperaturas de 28-31 °C. Las medidas que se pueden tomar para prevenir la *Tinea pedis* incluyen la práctica de una buena higiene personal (lavado regular de los pies, un buen secado y aplicación de polvo para los pies) y mantener la piel seca y fresca en todo momento. Se debe evitar el uso compartido de calcetines, zapatillas, zapatos y toallas con individuos infectados. La humedad excesiva y la oclusión de los pies también pueden reducirse usando sandalias o calzado ventilado. Además, el tratamiento ultravioleta con un dispositivo de desinfección ultravioleta C y el gas ozono reducen la carga fúngica en los zapatos.<sup>50</sup>

Los textiles (calcetines, toallas y ropa de cama) en contacto con piel infectada pueden servir como portadores de un hongo; Por el contrario, los tejidos antimicrobianos pueden contribuir a controlar los dermatofitos. *Trichophyton rubrum* puede ser transferido de textiles contaminados y no contaminados durante el almacenamiento en una cesta de lavandería y durante el procedimiento de lavado doméstico a 30 °C; sin embargo, el lavado a 60 °C elimina el *T. rubrum*.<sup>51</sup>

#### **1.4. PROBLEMA**

¿El extracto de *Allium sativum* posee efecto antifúngico sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro?

#### **1.5. JUSTIFICACIÓN**

*Trichophyton rubrum* es un patógeno productor de infecciones micóticas muy frecuentes y severas, reportándose un aumento de la resistencia a los antifúngicos de uso convencional, por cuyo motivo se está propendiendo a la búsqueda de productos alternativos de origen vegetal, donde la Fitoterapia es una alternativa segura, eficaz y de calidad, frente al tratamiento occidetel. Así mismo, uno de los objetivos de la OMS sobre la medicina tradicional y complementaria es promover la utilización de las plantas medicinales, que muestran menos efectos adversos y tienen acción más prolongada en el tiempo, respaldados y validados por investigaciones científicas, contexto en el cual se sustenta el desarrollo del presente trabajo, donde se busca conocer si el extracto del *Allium sativum* tiene acción antifúngica contra el *Trichophyton rubrum*, motivo que alienta la ejecución y posterior apertura de nuevos conocimientos que ampliarán el horizonte de las bases de la Farmacognosia.

#### **1.6. HIPÓTESIS**

**H 1:** El extracto del *Allium sativum* posee efecto antifúngico sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro.

**H 0:** El extracto del *Allium sativum* no posee efecto antifúngico sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro.

## **1.7. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto antifúngico del extracto del *Allium sativum* sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro.

### **OBJETIVO ESPECIFICO**

- Establecer el efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, en diferentes concentraciones.
- Determinar el efecto in vitro del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.
- Comparar el efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* y ketoconazol sobre cepas *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

## II. MÉTODO

**2.1 TIPO DE ESTUDIO:** Básico, analítico, experimental.

### 2.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

Experimental con comparaciones múltiples:

RG1: X - 01

RG2: X - 02

RG3: X - 03

RG4: X - 04

RG5: X - 05

RG6: X - 06

### 2.3. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

**VARIABLE INDEPENDIENTE:** Agente antifúngico para cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344

- **No farmacológico:** Extracto de *Allium sativum*.
- **Farmacológico:** Ketoconazol (Gold estándar).

**VARIABLE DEPENDIENTE:** Inhibición antifúngica para cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

- **Si efecto antimicótico:** Aumento del halo de inhibición.
- **No efecto antimicótico:** Disminución del halo de inhibición.

## 2.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<b>V.I.:</b>  Agente antifúngico.	El esquema antimicótico frente a cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> será:  No farmacológico el bulbo de <i>Allium sativum</i> . <sup>34</sup>  Farmacológico con ketoconazol. <sup>43</sup>	El <i>Allium sativum</i> será dividida en las siguientes diluciones:  a) 100% b) 75% c) 50% d) 25% e) Ketoconazol f) Solución fisiológica.	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
<b>V.D.:</b>  Inhibición antifúngica para cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.	Se medirá el halo de inhibición por medio del método Kirby Bauer. <sup>46</sup>	Se considera: <sup>53</sup> a) Sensible: $\geq 30$ mm. b) Intermedio: 21-29 mm. C) Resistente: $\leq 20$ mm.	-Eficaz (Sensible) -No eficaz (Intermedio y resistente)	Cualitativa nominal

## 2.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

**POBLACIÓN:** Está constituida por un conjunto cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344 cultivados en el laboratorio bajo condiciones controladas con las respectivas diluciones de exposición.

### MUESTRA:

#### Tamaño muestra:

Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la fórmula estadística para hallar el número de repeticiones necesarias que validen la investigación. Se obtuvo aplicando la siguiente fórmula estadística<sup>52</sup>



$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2 \sigma^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

$$Z_{\alpha/2} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\bar{x}_1: 30\text{mm}^{53}$$

$$\bar{x}_2: 22\text{mm}^{17}$$

$$\sigma : 1.8$$

$$n = 10$$

**Nota:** Por criterio del investigador se realizaron 10 repeticiones por cada concentración.

**Unidad de análisis:** Cada uno de los cultivos de cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

**Unidad de muestra:** Cada placa Petri con cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

**Muestreo:**

## 2.6. CRITERIOS DE SELECCIÓN:

### Criterios de inclusión:

- Cepa o muestra estándar.
- Cepa menor de 24 horas.

### Criterios de exclusión:

- Cepa o muestra contaminada.

## 2.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS,

### VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

### LA TÉCNICA:

Consistió en la observación directa de los cultivos en las placas Petri.<sup>54</sup> (Ver anexo 01).

### PROCEDIMIENTO:

Se obtuvo el extracto de *Allium sativum*, que luego se aplicó a las cepas según concentraciones establecidas.<sup>55</sup> (Ver anexo 02).

#### **INSTRUMENTO:**

El instrumento que se utilizó fue la ficha de recolección de datos que consistirá en observar las placas, diluciones y halos de inhibición a las 48 horas. (Ver anexo 03).

#### **VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO**

Método de experimentación y microbiología ya están validados. (Ver anexo 04).

### **2.8. METODOLOGÍA**

La información obtenida será tabulada en una ficha Excel, y luego se analizarán en el programa SPSS versión 22. Para los gráficos se utilizarán el diagrama de cajas o bigotes.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se aplicó las pruebas estadísticas para homogenizar la muestra y luego análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros; luego el análisis postanova Tukey permitió identificar la dilución con el que se obtendrá mayor tamaño de halo de inhibición.

### **2.9. ASPECTOS ÉTICOS:**

En el estudio se tomará en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud.<sup>56</sup> Asimismo se consideró la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Privada César Vallejo de Trujillo.

En el presente trabajo se respeta el principio de ética adoptado en el Capítulo 06 de Código de Ética del Colegio Médico del Perú, especialmente el 06 art 48.<sup>57</sup>

### III RESULTADOS

TABLA 01. Efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, en diferentes concentraciones.

Concentraciones	n	Suma	Promedio	Varianza	Cuartiles		
					1	2	3
100%	10	323	32.3	0.46	32	32	33
75%	10	295	29.5	0.28	29	29.5	30.0
50%	10	228	22.8	0.62	22	23	23
25%	10	145	14.5	0.50	14	14	15

Fuente: Laboratorio de la Universidad César Vallejo de Trujillo

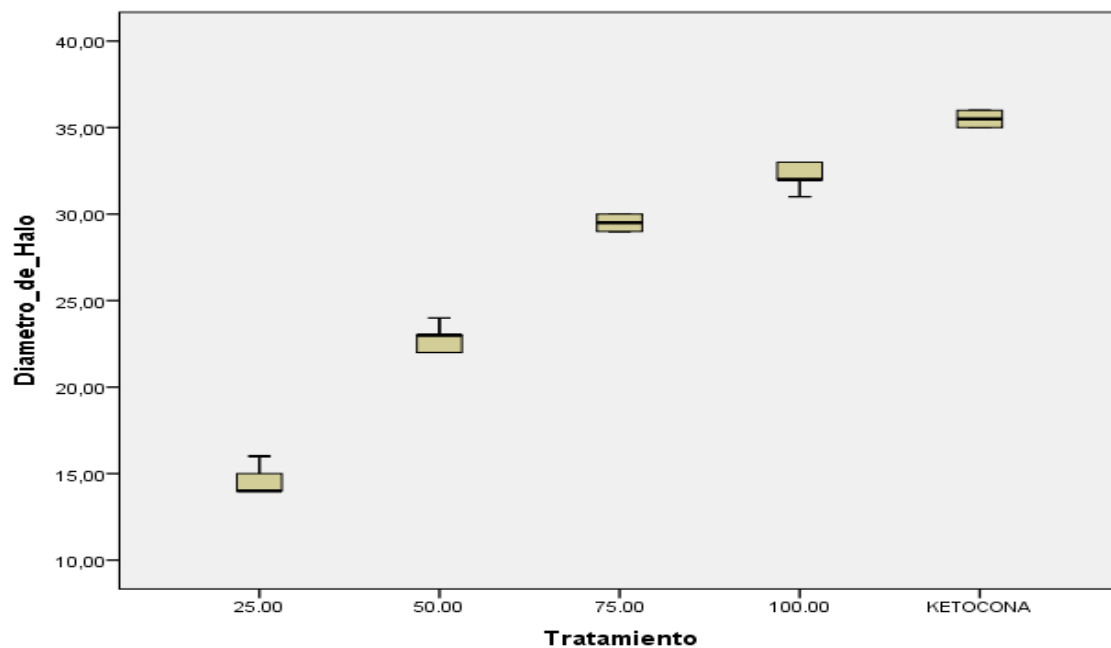
#### Interpretación:

Los diámetros de halo inhibitorio más altos encontrados en el presente estudio se presentan en la concentración de 100 % (32.3 mm) y los diámetros más pequeños en concentraciones de 50 % y 25 % respectivamente (22.8 y 14.5 mm).

Por otro lado, la concentración más homogénea (varianza) se presenta en la concentración de 75% (0.28 mm) esta diferencia de los diámetros es pequeña como se puede visualizar en diagrama de cajas (figura 01).

En cuanto a los tres cuartiles se observa que existe una diferencia no mayor a uno en los resultados de todas las concentraciones del antifúngico, lo que indica que no hay variabilidad significativa en las mediciones finales del halo de inhibición; por tanto, esta medida de dispersión de rango intercuartílico es uniforme.

Figura 1. Efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, en diferentes concentraciones.



Interpretación:

El ancho de las cajas es corta, lo que indica que no hay amplia dispersión de los resultados, no superando los 10 mm en cada caso. Las cajas de la concentración del *Allium sativum* al 75 % y del ketoconazol muestran la mediana que coincide con el segundo cuartil, lo cual refleja resultados homogéneos. Se observa que a mayor concentración del *Allium sativum* es más sensible el *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

TABLA 2. Efecto in vitro del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

Grupo	N	Suma	Promedio	Varianza	CUARTILES		
					1	2	3
Ketoconazol	10	355	35.5	0.28	35	35.5	36

Fuente: Laboratorio de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

Interpretación:

El diámetro de halo inhibitorio encontrado en Ketoconazol fue de 35.5 mm con una varianza muy pequeña de 0.28 mm, con rango intercuartilico cuartiles 3 y 1 con la diferencia de un cm.

Tabla 3. Comparación el efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* y ketoconazol sobre cepas *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

Fuente de variación	SC	GL	C. Medio	F	p
Entre grupos	2804.5	4	701.1	1643.3	0.000
Dentro de los grupos	19.2	45	0.43		
Total	2823.7	49			

Fuente: Laboratorio de la Universidad Cesar Vallejo de Trujillo.

#### Interpretación:

El análisis de varianza realizado permite establecer una diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre los efectos del extracto del *Allium sativum* y ketoconazol sobre cepas *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, la cual resulta pertinente realizar un análisis pos anova para determinar el mejor tratamiento.

Tabla 4. Post Anova del efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* y ketoconazol sobre cepas *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
25,00	10	14.5				
50,00	10		22.8			
75,00	10			29.5		
100,00	10				32.3	
Ketoconazol	10					35.5
Sig.		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Fuente: Laboratorio de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

Interpretación;

El resultado de la prueba post anova “test de Tukey” indica que existe una diferencia significativa entre el diámetro de Ketoconazol (35.5mm) y la concentración del extracto del *Allium sativum* al 100% (32.3 mm) por tener el diámetro medio más alto de halo de inhibición considerándose el 100% el segundo más eficaz. Mientras que las concentraciones de 75, 50 y 25% son mínimas en términos de eficacia.

#### IV. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación se orientó a determinar el efecto in vitro del extracto del *Allium sativum* sobre cepas *Trichophyton rubrum* ATCC 1344. Evaluando tal efecto sobre la dimensión de los diámetros de halo de inhibición de cada cepa, de dichos resultados de medición se obtuvieron indicadores como el promedio de diámetro de halo las cuales son usados en la comparación del efecto a diferentes concentraciones al usar el ANOVA; los cuartiles que permiten visualizar el comportamiento de la dispersión las cuales son reflejadas en el ancho de cada caja en el gráfico de bigotes, mediana, y la desviación estándar como medida de variabilidad para evaluar el comportamiento de la medición de los halos de inhibición, estos indicadores fueron el insumo para el uso el análisis de varianza (ANOVA), prueba estadística que permite evaluar si el efecto es el mismo en todas las concentraciones comparado con ketoconazol, al resultar significativo se evaluó la prueba post ANOVA de Tukey que permitió determinar el efecto de las concentraciones extracto del *Allium sativum* y ketoconazol sobre cepas *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, estos resultados tienen similitud a trabajos en los que se utilizan los extractos producidos por destilación y condensación en los que se demuestra inhibición tal como es el caso de Bhadauria S. et al (India, 2011), donde realizó trabajos sobre antidermofítica de plantas entre ellas: *Allium sativum* linn. frente a cepas de *Trichophyton rubrum*. Determinando una actividad antifúngica fuerte del extracto con agua de *Allium sativum* linn, frente a *Trichophyton rubrum*, con un halo de inhibición de 22 mm. Cifra muy cercana a la obtenida en nuestro estudio a una concentración del 25% de 22.8 mm, seguida de la concentración de 75 % y 100 % respectivamente de 29.5 y 32.3 mm siendo éstas dos últimas las concentraciones de menor variabilidad (más homogeneidad) de 0.28 y 0.43 mm (tabla 1). Por otro lado, el diámetro de halo inhibitorio medio obtenido con el ketoconazol fue de (35.5 mm) y la varianza muy pequeña de 0.28 mm.

Estadísticamente se observa que los crecimientos de las cepas son dependiente de las diferentes concentraciones de *Allium sativum*; es decir, cuando la concentración es alta resulta que el diámetro de crecimiento del hongo es fungicida, también se observó que en el control positivo de ketoconazol es mucho



mayor manteniéndose nula el control negativo indicando que no existe otros factores que estén afectando el experimento.

Cahuas L. et al (Perú, 2010) determinaron el efecto antimicótico de *Allium sativum* en cepas de dermatofitos y *Candida albicans*, donde se estimó que para *T. rubrum* en las diferentes concentraciones, 500 ug/ml es la concentración mínima inhibitoria; así también, el efecto fungicida de *Allium sativum* es 1000 ug/ml estas cifras refuerzan a lo obtenido en la presente investigación pues de acuerdo a la escala CLSI las concentraciones 100 % de *Allium sativum* fueron sensibles; por otro lado, la contracciones de 75 % fueron 50 % de cepas sensible y 50% intermedio, cabe resaltar que en nuestra investigación la concentración mínima inhibitoria de *Allium sativum* fue de 50% pues obtuvimos el 100% de cepas a nivel intermedio ya a concentraciones de 25% no se tuvo efecto inhibitorio.

Para el caso del control positivo como es el ketoconazol en nuestro estudio tiene una actividad antifúngica con un halo de inhibición  $\geq 30$  mm que en promedio resulto ser 35.5 mm, y un grado de homogeneidad en su efecto inhibitorio considerándolo en el presente estudio como el más efectivo seguido de la concentración de 100% de *Allium sativum* que en promedio se obtuvo un diámetro de 32.3 mm. este efecto vino reduciéndose por las menores concentraciones de *Allium sativum* según los resultados obtenidos de la prueba estadística pos anova de Tukey

Estos resultados permiten marcar la pauta para la continuación de estudios in vitro que demuestren las propiedades medicinales que se le asignen al *Allium sativum*, y así la medicina tradicional tendrá más notoriedad en nuestro país donde abunda de mucha diversidad de flora orientada a utilizar como fitofármacos a menor costo y más inocuos para la población.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- El extracto de *Allium sativum* en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, presenta efecto antifungico sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344; sin embargo, sólo muestra eficacia la concentración del 100 % por superar los 30 mm del halo de inhibición, según normas del CLSI.
- El efecto del ketoconazol es más alto que todas las concentraciones del *Allium sativum*, por presentar un mayor diámetro del halo inhibitorio del *Trichophyton rubrum* ATCC 1344.
- La concentración al 100 % del extracto de *Allium sativum* y el ketoconazol, son las únicas presentaciones que ejercen eficacia antifungica sobre el *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, ambos por mostrar un halo inhibitorio superior a los 30 mm establecidos por el CLSI.

## VI. RECOMENDACIONES

El control positivo permite darle solides en términos de eficacia en éste caso el ketoconazol, pero se recomienda el uso de otro antifungicida para evitar sesgos.

Si bien es cierto que la concentración de *Allium sativum* al 100% tiene efecto antifúngico, pero controlando aspectos secundarios la concentración de 75% podría tener efecto similar.

El presente trabajo de investigación abre puertas para generar iniciativas de inversión a va fin de concentrar el sustrato de *Allium sativum* y ponerlo a disposición de la industria farmacéutica para fines medicinales.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morrone A, Toma L, Franco G. Skin diseases highlighting essential global public health priorities. *Int J Dermatol* 2005
2. Walker SL, Shah M, Hubbard VG, Pradhan HM, Ghimire M. Skin disease is common in rural Nepal: results of a point prevalence study. *Br J Dermatol* 2008
3. Gibbs S. Skin disease and socioeconomic conditions in rural Africa: Tanzania. *Int J Dermatol* 1996
4. Amparo H, Patricia C, Ramón F, Roberto A. "Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México". Departamento de Micología del Hospital General Dr. Manuel Gea González, México; 5(3): 164 – 169. 2005.
5. Havlickova B 1, Czaika VA, Friedrich M. Las tendencias epidemiológicas en las micosis cutáneas en todo el mundo. *Micosis*. 2008. 2-15:1439-0507. [citado: 2017 May 22]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18783559>
6. Epidemiología de las dermatomicosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. [citado: 2017 May 22]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v75n2/a13v75n2.pdf>
7. Rodríguez J. "Dermatofitosis: Algunos aspectos epidemiológicos del Hospital Regional Docente de Trujillo de 1994 a 1998". Trujillo. U.N.A.T. 2(3): 68-72. 2000.
8. Bases legales para el uso de plantas medicinales. España 2000. URL, [citado: 2017 May 22]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18840es/s18840es.pdf>
9. OMS. Nuevas directrices para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. Ginebra 2004. [citado: 2017 May 22]. Disponible en : <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
10. Ledezma E. Apitz R. Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico [citado: 2017 May 22]. Disponible en :

file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrador/Escritorio/ledezma 2006.pdf

11. Mayorga J. Ramírez L. Marañón B. Prevalencia de dermatofitosis producida por *Trichophyton rubrum*. Rev Mex 2017; 2:108-114. [citado: 2017 May 16]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2017/rmd172d.pdf>
12. Shivakumar P. Vidyasagar G. Antifungal screening of 61 folkloric medicinal plant extracts against dermatophytic fungi *Trichophyton rubrum*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015. 5 (05): 038-044. [citado: 2017 May 29]. Disponible en: <http://imsear.li.mahidol.ac.th/bitstream/123456789/159207/1/japs2015v5n5p38.pdf>
13. Aala F. Kalsom U. Nulit R. Rezaie S. Efecto inhibidor de los extractos de alicia y ajo sobre el crecimiento de las hifas cultivadas. Irán J básica Med Sci. 2014; 3:150-154. [citado: 2017 May 04]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016684/>
14. Abdelbasit E. Ballal W. In vitro Activity of Garlic (*Allium sativum*) on Some Pathogenic Fungi. European Journal of Medicinal Plants. 2014; 4:1240-1250. [citado: 2017 May 10]. Disponible en: <http://imsear.li.mahidol.ac.th/bitstream/123456789/164192/1/ejmp2014v4n10p1240.pdf>
15. Patankar M. Thane A. Bhargava A. Comparison of the Minimum Fungicidal Concentration of Clotrimazole, Ketoconazole, Miconazole and Terbinafine Against Clinical Isolates of Dermatophytes. Ahluwalia Indian Medical Gazette. 2014. [citado: 2017 May 05]. Disponible en: <http://imsear.li.mahidol.ac.th/bitstream/123456789/157587/1/img2014v148n2p65.pdf>
16. Morton O. Chau M. Stack C. In vitro combination therapy using low dose clotrimazole and photodynamic therapy leads to enhanced killing of the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. BMC Microbiology 2014; 14:261. [citado: 2017 May 13]. Disponible en <http://download.springer.com/static/pdf/228/art%253A10.1186%252Fs12866-014-0261-z.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Fbmcmicrobiol.biomedcentral.com%2Farticle/10.1186/s12866-014-0261-z.pdf>

cle%2F10.1186%2Fs12866-014-0261-  
z&token2=exp=1494549938~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F228%2Fart%2525  
3A10.1186%25252Fs12866-014-0261-  
z.pdf\*~hmac=9d8a04071a126a077996cfc688ddd5e65ed5b6eafab9923f86  
9da019e8203e0a

17. Bhadauria S. Kumar P. In Vitro Antimycotic Activity of Some Medicinal Plants Against Human Pathogenic Dermatophytes. *Journal of Fundamental and Applied Life*. 2011; 1:1-10. [citado: 2017 May 21]. Disponible en: <http://www.cibtech.org/J-LIFE-SCIENCES/Vol%201%20No.%202/1%20-%2011%20ok%20Final%20Seema%20DERMATOPHYTES.pdf>
18. Sei Y. Encuesta epidemiológica de dermatomicosis en Japón. *Med Mycol*. 2015; 4:250-354. [citado: 2017 May 22]. Disponible en: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/mmj/56/4/56\\_J129/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/mmj/56/4/56_J129/_pdf)
19. Bejar V. Villanueva F. Guevara J. González S. Epidemiología de las dermatomicosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Fac med*. 2014; 2:167-72 [citado: 2017 May 24]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/8380/7492>
20. Cahuas L. Luján M. Robles H. Saravia V. Cabeza J. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* “ajo” frente a dermatofitos y *Candida albicans*. *UCV – Scientia*. 2010; 2 [citado: 2017 May 14]. Disponible en: <http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/UCV-SCIENTIA/article/view/408/287>
21. Krapp K. Longe J. *Medicina alternativa*. 1º ed. Barcelona, España: Oceano/Ergon; 2010.
22. Organización mundial de la salud (OMS). *Enfermedades micóticas*. [citado: 2017 May 28]. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf?ua=1)
23. Vanaclocha B. Cañigüeral S. *Fitoterapia. Vademécum de prescripción*. 4ª ed. Barcelona: Masson, 2003.
24. Kuklinski C. *Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. 1º ed. Barcelona: Omega; 2000.

25. Cebrian J. Diccionario de plantas medicinales. 1º ed. Barcelona: Integra; 2012.
26. Garcia F. Mostacero J. Flora Etmomedicinal de la Región Amazónica del Perú. 1º ed. Trujillo, Perú; 2009.
27. Robbers J. Tyler V. Las hierbas medicinales de Tyler uso terapéutico de la fitomecinas. 1º ed. Barcelona: Ed. Acribia S.A; 2006.
28. Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. la ed. Lima ed. AIDSESP, 1994.
29. Lawson L. Bioactive organosulfur compounds of garlic and garlic products: role in deducing blood lipids. in: human medicinal agents from plants. Am Chem Society, chapter. 1993; 21:306-330. [citado: 2017 May 12]. Disponible en : <http://sci-hub.cc/http://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/bk-1993-0534.ch021>
30. Ledezma E. Apitz R. Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. Rev Iberoam Micol 2006; 23: 75-80 [citado: 2017 junio 22]. Disponible en: <http://sci-hub.cc/http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1130140606700171>
31. Kuettner E. Hilgenfeld R. Weiss M. The active principle of garlic at atomic resolution. J Biol Chem. 2002; 277:46402-46407 [citado: 2017 May 02]. Disponible en : <http://www.jbc.org/content/277/48/46402.full.pdf>
32. Alzate E. Plantas medicinales. 15ª ed. Medellín. Ed. Arzobispado de Medellín. 1980.
33. Brooks G. Carrol K. Buyel J. Morse S. Migtzner T. Microbiología Médica. 25º ed. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
34. Forbes B. Sanm D. Weissfeld A. Trevio E. Diagnostico Microbiológico. 11º ed. Uruguay. Ed. Médica Panamericana; 2004.
35. Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología Médica. 6º ed. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2009.
36. Yang J. Chen L. Wang L. Zhang W. Jin O. TrED: the *Trichophyton rubrum* Expression Database. [citado: 2017 May 12]. Disponible en: <http://download.springer.com/static/pdf/369/art%253A10.1186%252F1471-2164-8-250.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Fbmcbmcgenomics.biomedcentral.com%2F>

article%2F10.1186%2F1471-2164-8-250&token2=exp=1495737086~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F369%2Fart%25253A10.1186%25252F1471-2164-8-250.pdf\*~hmac=1a5ce7e671926a893f41b1952cd8b28bf7a7922e760401f4b935e8734f89956b

37. Aristegui B. Taxonomía y división de *Trichophytum rubrum*. [citado: 2017 May 22]. Disponible en: <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/043.PDF>
38. Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología Médica. 6º ed. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2009.
39. Falabella R. Victoria J. Barona M. Dominguez L. Dermatología. 6º ed. Bogotá: Corporación para la industria biológica; 2004.
40. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. 5º ed. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2014.
41. Bonifaz J. Micología Médica Básica. 4º ed. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2012
42. Quindos G. Micología Clínica. 1º ed. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2009.
43. Velasco O. Tay J. Introducción a la Micología Médica. 2º ed. Barcelona: Mercedes Editores; 2004.
44. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. 5º ed. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2014.
45. Freedberg L. Eisen A. Wolff K. Austen K. Goldsmith L. Katz S. Dermatología en Medicina General. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2008.
46. Quindos G. Micología Clínica. 1º ed. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2009.
47. Balasini C. Reina R. Candela M. Infectología Crítica Manejo de la Patología Infecciosa en el Paciente Grave. 1º ed. Buenos Aires, Argentina: Ed Médica Panamericana; 2014.
48. Noguera A. Saavedra J. Nuñez E. Infectología Pediátrica Avanzada. 1º ed. Madrid: Ed Médica Panamericana; 2014.
49. Southwick Enfermedades infecciosas. 2º ed. México D.F: Mc Graw Hill; 2008.



50. Donarus A. Farreras P. Rozman C. Cardelach F. Medicina Interna. 17º ed. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2012.
51. Benetti J. Dolin R. Blaser M. Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica. vol 2. 8º ed. Barcelona, España: ElSevier Masson; 2015.
52. Dawson B. Trapp R. Bioestadística Médica, 3ra. ed. México: Manual Moderno; 1999.
53. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. 19087 USA, 2016. [citado: 2017 May 20]. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
54. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. [citado: 2017 May 20]. Disponible en [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua\\_l%20sensibilidad.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf)
55. Cardona L. Gonzalez P. Obtención y caracterización de la oleoresina del ajo (*Allium sativum*). Universidad Tecnológica de la Perla. 2007 [citado: 2017 May 22]. Disponible en <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/480>
56. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (Minsa). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
57. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en [http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley\\_creacion\\_cmp.pdf](http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf)

## ANEXOS

### ANEXO N° 01

#### ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DEL *Allium sativum*.

El extracto se obtendrá por el proceso de contracción del bulbo del *Allium sativum*, con el propósito de romper la estructura morfológica de la droga vegetal, de manera que se pueda obtener un extracto acuoso, el cual será separado de la parte sólida con la finalidad de ser utilizado en sus diferentes concentraciones para aplicarlo sobre las cepas micóticas.

La purificación del extracto con la finalidad de eliminar el sobrenadante se realizará con un equipo convencional de filtrado empleando papel whatman N° 20, en un tiempo aproximado de 20 minutos. La esterilización del extracto del *Allium sativum* se obtendrá por filtrado a través de un filtro millipore de diámetro de 0.44  $\mu\text{m}$  – 0.22  $\mu\text{m}$ , en un tiempo aproximado de 1 hora.

Se realizará la marca fitoquímica para saber los componentes del extracto de *Allium sativum*, los cuales serán corroboradas por cromatografía de capa fina frente a estándares.

## **ANEXO N° 02**

### **DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN.**

#### **FUNDAMENTO**

El método de antibiograma desarrollado en discos de difusión basado en los trabajos de Kirby y Bauer es una de los métodos que la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para el estudio de sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Éste método consiste en preparar los medios de agar en placas de 100 a 150 mm de diámetro, para luego ser inoculados de forma simétrica y en un solo sentido y dejar el inóculo un aproximado de 24 a 48 horas para medir los halos de inhibición en cada placa. Éste método también está aprobado por la NCCLS para la investigación de nuevos antimicrobianos.

#### **PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA**

##### **PREPARACION DEL AGAR:**

El desarrollo del medio de cultivo se realizará según las indicaciones del fabricante. Colocaremos esta solución en una autoclave y dejaremos enfriar hasta (45°C – 50°C). Luego de esterilizarlo y solidificarlo cuantificaremos el pH, debiendo estar entre 7.2 a 7.4 a temperatura ambiente. Dosificaremos el medio en placas Petri de 150 mm en el cual utilizaremos 70 ml del agar.

##### **INÓCULO**

La preparación del inóculo se realizará seleccionando 4 a 5 colonias bien aisladas del mismo tipo morfológico. Para lo cual, sólo se debe tocar cada colonia con un asa Digrafsky y transferirlo a un tubo que contiene 5 ml del caldo apropiado. Incubar el caldo de 35 °C a 37 °C, hasta que exceda la turbidez del estándar 0.5 de la escala de Mc Farland. Ajustar la turbidez con

solución salina. La superficie preparada tendrá aproximadamente  $1 \text{ a } 2 \times 10^8$  UFC/ml.

## **INOCULACION EN LA PLACA**

Se realizará dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste de la turbidez del inóculo. Se sumergirá un hisopo estéril en la solución del inóculo, luego se rotará el hisopo ejerciendo presión sobre la pared interior del tubo, posteriormente se inoculará en la superficie de la placa que tiene el medio de agar de forma uniforme y en un solo sentido (Figura 01). Dejaremos secar de 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

## **INCUBACIÓN**

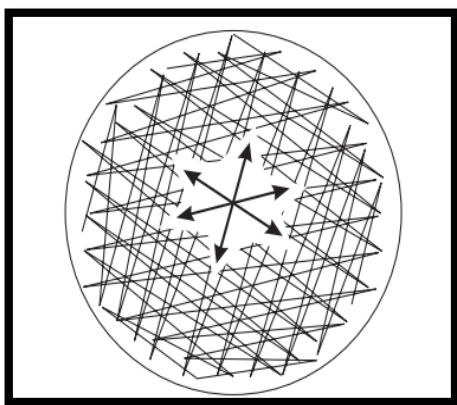
Se incubarán las placas en situación invertida a  $37^\circ\text{C}$ , a una atmósfera de 5 % de  $\text{CO}_2$ . Dejando 48 horas de incubación, finalmente se analizará cada placa y se medirán los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

## **ACTIVIDAD ANTIMICROBIOLÓGICA**

Se colocará 10  $\mu\text{l}$  de cada concentración del extracto de *Allium sativum* sobre las colonias bien identificadas en las placas Petri considerando el estándar 0.5 de la escala de Mc Farland, luego se dejará 30 minutos para que el sustrato ejerza su acción antimicótica y posteriormente se procederá a la lectura de las placas.

## **LECTURA DE LAS PLACAS**

Se miden los diámetros de las zonas de inhibición completa usando una regla o calibrador, según los diámetros usados universalmente por la CLSI se reportará como sensible (S), intermedio (I), o resistente (R).



**Figura 01: Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar.**

## ANEXO N° 04

### INSTRUMENTO

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer

Cepa empleada: *Trichophyton rubrum* ATCC 1344

Extracto del *Allium sativum*.

Número de Repeticiones	Diámetro del Halo de Inhibición(mm)					Observación
	100%	75%	50%	25%	Ketoconazol	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
.						
.						
.						
20						
PROMEDIO						

## FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Concentración Inhibitoria Mínima.

Cepa empleada: *Trichophyton rubrum* ATCC 1344

Extracto del *Allium sativum*.

Número de Repeticiones	Concentración inhibitoria mínima					Observación
	100%	75%	50%	25%	ketoconazol	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
⋮						
20						
Promedio						

**ANEXO N° 05**

**VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO POR CADA  
EXPERTO**

<b>ELABORADO</b>		<b>REVISADO Y APROBADO</b> <b>Jefe del Servicio</b>	
<b>Nombre/firma</b>	<b>Fecha</b>	<b>Nombre/firma</b>	<b>fecha</b>

<b>EDICION</b>	<b>FECHA</b>	<b>ALCANCE DE LA MODIFICACION</b>



## ANEXO N° 06

### VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

Servicio de Microbiología del Hospital ...	Validación de métodos moleculares	PNT-VV-01	
		Edición N° 01	Página 7-7

#### Anexo 1. Protocolo de validación de métodos microbiológicos

N° de Protocolo:	Responsable:
------------------	--------------

1.- Objetivos del estudio

2.- Fecha de realización: \_\_\_\_\_

3.- Alcance de la validación  
 Análito (ej. agente infeccioso): \_\_\_\_\_  
 Muestra: \_\_\_\_\_  
 Rango de trabajo: \_\_\_\_\_  
 Procedimiento de ensayo:   (Código del procedimiento de ensayo)  
 Tipo de Método:    ☐ Cualitativo    ☐ Cuantitativo    ☐ Semi-Cuantitativo  
 Nombre y código de los equipos empleados:

4.- Parámetros de Validación	5.- Criterios de aceptación																																
<input type="checkbox"/> Selectividad/Especificidad <input type="checkbox"/> Límite de detección <input type="checkbox"/> Límite de cuantificación <input type="checkbox"/> Intervalo de linealidad <input type="checkbox"/> Precisión: Repetibilidad <input type="checkbox"/> Precisión: Reproducibilidad <input type="checkbox"/> Exactitud <input type="checkbox"/> Otros	<table style="width: 100%;"> <tr> <td>% aciertos</td> <td><span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span></td> <td>% fallos</td> <td><span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span></td> </tr> <tr> <td>LD =</td> <td colspan="3"><span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span></td> </tr> <tr> <td>LC =</td> <td colspan="3"><span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span></td> </tr> <tr> <td>R<sup>2</sup> ≥</td> <td><span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span></td> <td>CL ≥</td> <td><span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span></td> </tr> <tr> <td>CV% ≥</td> <td colspan="3"><span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span></td> </tr> <tr> <td>CV% ≥</td> <td colspan="3"><span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span></td> </tr> <tr> <td>E% ≤</td> <td colspan="3"><span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span></td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="3">Indicar <span style="border: 1px solid black; padding: 0 20px;"> </span></td> </tr> </table>	% aciertos	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>	% fallos	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>	LD =	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>			LC =	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>			R <sup>2</sup> ≥	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>	CL ≥	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>	CV% ≥	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>			CV% ≥	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>			E% ≤	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>				Indicar <span style="border: 1px solid black; padding: 0 20px;"> </span>		
% aciertos	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>	% fallos	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>																														
LD =	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>																																
LC =	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>																																
R <sup>2</sup> ≥	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>	CL ≥	<span style="border: 1px solid black; width: 60px;"> </span>																														
CV% ≥	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>																																
CV% ≥	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>																																
E% ≤	<span style="border: 1px solid black; height: 20px;"> </span>																																
	Indicar <span style="border: 1px solid black; padding: 0 20px;"> </span>																																

6.- Relación de experimentos  

Descripción	Límite de Detección
Descripción	Selectividad / Especificidad
Descripción	Parámetro

7.- Observaciones

Cargo  
 Firma  
 Fecha

## ANEXO N° 07

Efectividad anti fúngica según criterio CLSI.

Concentraciones	Sensible	Intermedio	Resistente
100%	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
75%	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>0</b>
50%	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>0</b>
25%	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>100</b>

Fuente: Laboratorio de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

## ANEXO N° 08

### PRIMERA MATRIZ DE CONSISTENCIA PARA ELABORACIÓN DE DESARROLLO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Fecha: 13-12-2018

NOMBRE DEL ESTUDIANTE:

JESÚS ELÍAS RODRÍGUEZ VILLAVICENCIO

FACULTAD/ESCUELA: Ciencias de la Salud, Medicina.

TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	EFEECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO DE <i>Allium sativum</i> EN CEPAS DE <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344, CONTRASTADO CON KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO.
PROBLEMA	¿El extracto de <i>Allium sativum</i> posee efecto antifúngico sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro?
HIPÓTESIS	H 1: El extracto del <i>Allium sativum</i> posee efecto antifúngico sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro.  H 0: El extracto del <i>Allium sativum</i> no posee efecto antifúngico sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro.
OBJETIVO GENERAL	Evaluar el efecto antifúngico del extracto del <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344 comparado con ketoconazol, estudio in vitro.
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	<ul style="list-style-type: none"><li>– Establecer el efecto in vitro del extracto del <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344, en diferentes concentraciones.</li><li>– Determinar el efecto in vitro del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.</li><li>– Comparar el efecto in vitro del extracto del <i>Allium sativum</i> y ketoconazol sobre cepas <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.</li></ul>
DISEÑO DEL ESTUDIO	Experimental con comparaciones múltiples:
POBLACIÓN Y MUESTRA	POBLACIÓN: Está constituida por un conjunto cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344 cultivados en el laboratorio bajo condiciones controladas con las respectivas diluciones de exposición. MUESTRA: Cada placa Petri con cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.
VARIABLES	VARIABLE INDEPENDIENTE: Agente antifúngico para cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344. VARIABLE DEPENDIENTE: Inhibición antifúngica para cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.

### OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable(s)	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<b>V.I.:</b> Agente antifúngico.	El esquema antimicótico frente a cepas	El <i>Allium sativum</i> será dividida en las siguientes diluciones:  g) 100%	RG1 RG2 RG3	Cualitativa nominal

	de <i>Trichophyton rubrum</i> será:  No farmacológico el bulbo de <i>Allium sativum</i> . <sup>34</sup>  Farmacológico con ketoconazol. <sup>43</sup> .	h) 75% i) 50% j) 25% k) Ketoconazol l) Solución fisiológica.	RG4  RG5  RG6	
<b>V.D.:</b>  Inhibición antifúngica para cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.	Se medirá el halo de inhibición por medio del método Kirby Bauer. <sup>46</sup>	Se considera: <sup>53</sup> c) Sensible: $\geq 30$ mm. d) Intermedio: 21-29 mm. C) Resistente: $\leq 20$ mm.	-Eficaz  (Sensible)  -No eficaz  (Intermedio y resistente)	Cualitativa nominal

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	<p>La información obtenida será tabulada en una ficha Excel, y luego se analizarán en el programa SPSS versión 21.1. Para los gráficos se utilizarán el diagrama de cajas o bigotes.</p> <p>Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se aplicó las pruebas estadísticas para homogenizar la muestra y luego análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros; luego el análisis postanova Tukey permitió identificar la dilución con el que se obtendrá mayor tamaño de halo de inhibición.</p>
RESULTADOS	<p><b>TABLA 01. Efecto in vitro del extracto del <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344, en diferentes concentraciones.</b></p> <p>Interpretación:</p> <p>Los diámetros de halo inhibitorio más altos encontrados en el presente estudio se presentan en la concentración de 100 % (32.3 mm) y los diámetros más pequeños en concentraciones de 50 % y 25 % respectivamente (22.8 y 14.5 mm).</p> <p>Por otro lado, la concentración más homogénea (varianza) se presenta en la concentración de 75% (0.28 mm) esta diferencia de los diámetros es pequeña como se puede visualizar en diagrama de cajas (figura 01).</p> <p>En cuanto a los tres cuartiles se observa que existe una diferencia no mayor a uno en los resultados de todas las concentraciones del antifungico, lo que indica que no hay variabilidad significativa en las mediciones finales del halo de inhibición; por tanto, esta medida de dispersión de rango intercuartílico es uniforme.</p>

	<p><b>TABLA 2. Efecto in vitro del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.</b></p> <p>Interpretación:</p> <p>El diámetro de halo inhibitorio encontrado en Ketoconazol fue de 35.5 mm con una varianza muy pequeña de 0.28 mm, con rango intercuartilico cuartiles 3 y 1 con la diferencia de un mm.</p> <p><b>Tabla 3. Comparación el efecto in vitro del extracto del <i>Allium sativum</i> y ketoconazol sobre cepas <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.</b></p> <p>Interpretación:</p> <p>El análisis de varianza realizado permite establecer una diferencia altamente significativa (<math>p &lt; 0.01</math>) entre los efectos del extracto del <i>Allium sativum</i> y ketoconazol sobre cepas <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344, la cual resulta pertinente realizar un análisis pos anova para determinar el mejor tratamiento.</p> <p><b>Tabla 4. Post Anova del efecto in vitro del extracto del <i>Allium sativum</i> y ketoconazol sobre cepas <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.</b></p> <p>Interpretación;</p> <p>El resultado de la prueba post anova “test de Tukey” indica que existe una diferencia significativa entre el diámetro de Ketoconazol (35.5mm) y la concentración del extracto del <i>Allium sativum</i> al 100% (32.3 mm) por tener el diámetro medio más alto de halo de inhibición considerándose el 100% el segundo más eficaz. Mientras que las concentraciones de 75, 50 y 25% son mínimas en términos de eficacia.</p>
CONCLUSIONES	<p>El extracto de <i>Allium sativum</i> en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, presenta efecto antifungico sobre cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344; sin embargo, sólo muestra eficacia la concentración del 100 % por superar los 30 mm del halo de inhibición, según normas del CLSI.</p> <p>El efecto del ketoconazol es más alto que todas las concentraciones del <i>Allium sativum</i>, por presentar un mayor diámetro del halo inhibitorio del <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344.</p> <p>La concentración al 100 % del extracto de <i>Allium sativum</i> y el ketoconazol, son las únicas presentaciones que ejercen eficacia antifungica sobre el <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 1344, ambos por mostrar un halo inhibitorio superior a los 30 mm establecidos por el CLSI.</p>

